

**ANALISIS KERAGAMAN GENETIK *Musa balbisiana* Colla
BERDASARKAN MARKA RAPD DAN ISSR*
[Genetic variation analyses of *Musa balbisiana* Colla based on
RAPD and ISSR markers]**

Yuyu Suryasari Poerba[✉] dan Fajarudin Ahmad

Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi – LIPI
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46 Cibinong – Bogor 16119
yyspoerba@yahoo.com

ABSTRACT

Wild *Musa balbisiana* Colla is one of the progenitors of cultivated bananas and plantains. It is originated in Asia, and distributed from India to Papua New Guinea. This study was conducted to assess the molecular diversity of 25 accessions of *M. balbisiana* based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) analyses. RAPD and ISSR fingerprints of these banana varieties were detected by amplifications of nine primers of RAPDs and six primers of ISSRs. RAPD primers produced 84 amplified fragments varying from 150 bp to 2300 bp in size. 21.43 % of the amplification bands were polymorphic. ISSR primers produced 61 amplified fragments varying from 250 bp to 2200 bp in size. 29.30 % of the amplification bands were polymorphic. Based on these results, the 25 accessions of Indonesian *M. balbisiana* showed a low genetic variation, with coefficient of similarity ranged from 0.81 to 0.99.

Key words: *Musa balbisiana* Colla, RAPD, ISSR, genetic variation.

ABSTRAK

Musa balbisiana Colla (BB) liar merupakan salah satu nenek moyang dari pisang budidaya/komersial saat ini. Spesies ini berasal dari Asia yang tersebar dari India hingga Papua New Guinea. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari keragaman genetik 25 akses *M. balbisiana* dengan marka *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) dan *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR). Analisis sidik DNA dilakukan dengan menggunakan sembilan primer RAPD dan enam primer ISSR. Primer RAPD menghasilkan 84 pita DNA yang teramplifikasi yang berukuran dari 150 pasang basa (pb) hingga 2300 bp, 21,43 % diantaranya merupakan pita DNA polimorfik. Primer ISSR menghasilkan 61 fragment DNA yang teramplifikasi yang berukuran dari 250 pb hingga 2200 pb, 29,30% diantaranya merupakan pita DNA polimorfik. Berdasarkan hasil analisis, ke-25 akses *M. balbisiana* yang diteliti, menunjukkan keragaman genetik yang relatif rendah dengan koefisien kesamaan genetik berkisar antara 0,81 hingga 0,99.

Kata Kunci: *Musa balbisiana* Colla, RAPD, ISSR, keragaman genetik.

PENDAHULUAN

Musa balbisiana Colla (Musaceae) merupakan salah satu spesies diploid berbiji dari 60 species *Musa* yang ada di dunia. Bersama dengan spesies diploid berbiji lainnya, *Musa acuminata* Colla (genom AA), *M. balbisiana* (BB) adalah nenek moyang dari pisang budidaya saat ini. *M. balbisiana* memegang peranan penting dalam menyediakan sumber daya genetik untuk pemuliaan pisang karena memiliki karakter agronomis yang menguntungkan, seperti ketahanan terhadap beberapa penyakit dan kandungan karbohidrat yang relatif tinggi. *M. balbisiana* terdiri atas tiga varietas yaitu *M. balbisiana* var *balbisiana*, *M. balbisiana* var *brachycarpa* (Backer) Hakkinen, dan *M. balbisiana* var. *liukiuensis* (Matsum.) Hakkinen (The Plant List, 2010).

M. balbisiana tersebar di India (termasuk kepulauan Andaman) (Sarma *et al.*, 1995), Burma, Thailand (De Langhe *et al.*, 2000), China (Ge *et al.*, 2005), Taiwan (Chiu *et al.*, 2007), Jepang hingga

Filipina (Sotto dan Rabara, 2000). Semenanjung Malaysia, Indonesia hingga Papua New Guinea termasuk daerah yang jarang ditemukan populasi liar *M. balbisiana* (Häkkinen dan Väre, 2008; De Langhe, 2009). *M. balbisiana*, mungkin bukan asli Asia Tenggara dan New Guinea, tetapi species ini diduga merupakan spesies introduksi yang sudah lama mengalami naturalisasi (De Langhe, 2009).

Banyak penelitian yang mengelompokkan ‘kultigen’ dan ‘kultivar’ berbagai *M. balbisiana* pada berbagai lokasi sumber plasma nutfah *M. balbisiana*. Evaluasi berdasarkan morfologi telah dilakukan oleh Sotto dan Rabara (2000) di Filipina. Demikian juga, pengelompokan dilakukan dengan marka molekuler seperti RAPD di India (Uma *et al.*, 2006), AFLP di India dan China (Ude *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2007), cpDNA PCR-RFLP di China (Ge *et al.*, 2005), dan *microsatellites* (SSRs) di China (Ge *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2011) serta suppression subtractive hybridization (SSH) di Thailand (Arjcharoen

et al., 2010).

Walaupun Sotto dan Rabara (2007) menunjukkan tingginya perbedaan karakter morfologi diantara berbagai daerah geografis, pada umumnya keragaman morfologi *M. balbisiana* relatif rendah dibandingkan dengan *M. acuminata* (Simmonds dan Shepherd, 1955). Biasanya keragaman terdapat pada karakter perbungaan/perbuahan, seperti bentuk buah, 'bract persistence' dan bentuk jantung. Keragaman pada karakter 'plant stature' dan ukuran buah, biasanya sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tumbuh. Di Indonesia *M. balbisiana*, yang dikenal dengan nama lokal Pisang Batu (Indonesia), Klutuk, Klutuk Sukun, Klutuk Wulung (Jawa), Cau Manggala (Sunda), Unti Batu (Sulawesi Selatan), dibudidayakan untuk diambil daunnya sebagai pembungkus karena daunnya lebih tebal dan banyak mengandung lapisan lilin dibandingkan daun pisang jenis lain sehingga tidak mudah sobek atau rusak ketika digunakan atau diambil buahnya yang masih muda sebagai campuran pada bumbu rujak. *M. balbisiana* liar juga terdapat di Indonesia dikenal dengan nama Pisang Roti (Sumatera Barat) dan 'Pataga' (Sulawesi Utara).

Evaluasi dan identifikasi keragaman genetik *M. balbisiana* yang ada di Indonesia belum banyak diteliti. Untuk studi molekuler pisang, Crouch *et al.* (1999) menyarankan untuk mengintegrasikan perkiraan keragaman genetik dari berbagai teknik molekuler untuk mendapatkan hubungan genetik *Musa* yang lebih jelas dan informatif sehingga menghasilkan perkiraan kesamaan genetik yang lebih tepat dalam analisis plasma nutfah pisang. Oleh karena itu, penggunaan dua marka sekaligus, yaitu *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) dan *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSR) dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan pemahaman yang lebih baik mengenai keragaman genetik *M. balbisiana* Colla. Marka RAPD dan ISSR sudah lama digunakan dalam studi keragaman genetik pada pisang (Agoreyo *et al.*, 2008; Bhat dan Jarret, 1995; Brown *et al.*, 2009; Howell *et al.*, 1994; Jain *et al.*, 2007; Lakshmanan *et al.*, 2007; Pillay *et al.*, 2000;

Ray *et al.*, 2006; Uma *et al.*, 2006; Racharak and Eiadthong, 2007; Venkatachalam *et al.*, 2007; Poerba dan Ahmad, 2010). Marka RAPD dan ISSR mempunyai keuntungan dibandingkan dengan marka molekuler lainnya yaitu 'cost-effective', relatif mudah dan cepat (Welsh dan McClelland 1990; Godwin *et al.* 1997; Reddy *et al.* 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari keragaman genetik *M. balbisiana* yang terdapat di Indonesia dengan menggunakan marka molekuler RAPD dan ISSR dan mendapatkan pita DNA spesifik untuk *M. balbisiana*.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 sampel *M. balbisiana* dari berbagai lokasi koleksi dan empat sampel *M. acuminata* Colla var *malaccensis* (Ridl.) Nasution sebagai *out-group* (Tabel 1).

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA pisang dilakukan dengan menggunakan metode CTAB (Delaporta *et al.*, 1983) yang dimodifikasi, dengan penambahan RNase sampai konsentrasi akhir 250 µg/mL.

Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan metode Williams *et al.*, (1990) dengan menggunakan sembilan primer RAPD terpilih, yaitu RAPD, yaitu OPA-02, OPA-07, OPA-13, OPA-18, OPB-07, OPB-17, OPB-18, OPN-06 dan OPN-12 (Operon Technology Ltd) dan enam primer ISSR (University of British Columbia, Canada), yaitu UBC-811, UBC-814, UBC-815, UBC-826, UBC-834 dan UBC-840, yang sebelumnya diseleksi dan menghasilkan pita polimorfik pada pisang. Reaksi PCR dilakukan pada volume total 15 µl yang berisi 0,2 nM dNTPs; 1X bufer reaksi; 2 mM MgCl₂; 25 ng DNA sample; 1 pmole primer tunggal; dan 1 unit Taq DNA polymerase (Promega) dengan menggunakan Thermocycler (Takara) selama 45 siklus. Pemanasan pertama pada suhu 94°C selama 2 menit, kemudian diikuti oleh 45 siklus yang terdiri atas denaturasi 1 menit pada suhu 94°C, *annealing* 1 menit pada suhu

Tabel 1. Sampel *M. balbisiana* dan *M. acuminata* yang digunakan dalam penelitian ini.

No	No Koleksi	Nama latin	Nama lokal	Asal
1	II 20C#1	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk	Kebun CSC- asal Yogyakarta
2	II 20C#2	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk	Kebun CSC- asal Yogyakarta
3	PHD-22	<i>M. balbisiana</i>	Cau Manggala	Kec Cijeungjing, Ciamis
4	PHD-97	<i>M. balbisiana</i>	Cau Manggala	Ds Salawu, Kec Mangkureja, Singaparna
5	PHD-101	<i>M. balbisiana</i>	Cau Manggala	Karangpawitan, Wanaraja, Garut
6	PHD-106	<i>M. balbisiana</i>	Cau Manggala	Ds Sukamukti, Kec Sukawening
7	P-001	<i>M. balbisiana</i>	Pisang Batu	Denpasar, Bali
8	PAR 62	<i>M. balbisiana</i>	Unti Batu	Ds WatuToa, Kab Soppeng, Sulsel
9	PAR 63	<i>M. balbisiana</i>	Unti Batu	Ds WatuToa, Kab Soppeng, Sulsel
10	II 18C#1	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Sukun	Kebun CSC- asal Yogyakarta
11	II 18C#3	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Sukun	Kebun CSC- asal Yogyakarta
12	I 3C#1	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Wulung	Kebun CSC- asal Yogyakarta
13	I 3C#3	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Wulung	Kebun CSC- asal Yogyakarta
14	PHD-35	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Wulung	Pangandaran
15	PHD-36	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Wulung	Pangandaran
16	PHD-99	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Wulung	Ds Salawu, Kec Mangkureja, Singaparna
17	PHD-100	<i>M. balbisiana</i>	Klutuk Wulung	Ds Salawu, Kec Mangkureja, Singaparna
18	PAA 205	<i>M. balbisiana</i>	Roti	Kayu Aro, Sumatera Barat
19	PAA 206	<i>M. balbisiana</i>	Roti	Kayu Aro, Sumatera Barat
20	KRB1	<i>M. balbisiana</i> Colla var <i>liukuensis</i> Häkkinen	-	Kebun Raya Bogor
21	KRB2	<i>M. balbisiana</i> Colla var <i>liukuensis</i> Häkkinen	-	Kebun Raya Bogor
22	KRB3	<i>M. balbisiana</i> Colla var <i>liukuensis</i> Häkkinen	-	Kebun Raya Bogor
23	KRB4	<i>M. balbisiana</i> Colla var <i>liukuensis</i> Häkkinen	-	Kebun Raya Bogor
24	KRB5	<i>M. balbisiana</i> Colla var <i>liukuensis</i> Häkkinen	-	Kebun Raya Bogor
25	KRB6	<i>M. balbisiana</i> Colla var <i>liukuensis</i> Häkkinen	-	Kebun Raya Bogor
26	I 20B#1	<i>M. acuminata</i> var <i>malaccensis</i> (Ridl.) Nasution	Cau kole	Kebun Raya Bogor
27	I 20B#2	<i>M. acuminata</i> var <i>malaccensis</i> (Ridl.) Nasution	Cau kole	Kebun Raya Bogor
28	II 17B#1	<i>M. acuminata</i> var <i>malaccensis</i> (Ridl.) Nasution	Cau kole	Kebun Raya Bogor
29	II 17B#2	<i>M. acuminata</i> var <i>malaccensis</i> (Ridl.) Nasution	Cau kole	Kebun Raya Bogor

36°C, dan 2 menit ekstensi pada suhu 72°C. Setelah 45 siklus selesai, diikuti 5 menit proses ekstensi fragmen DNA pada suhu 72°C dan pendinginan pada suhu 25°C. Hasil amplifikasi PCR divisualisasi pada gel agarosa 2,0% dalam bufer TEA (Tris-EDTA) secara elektroforesis dengan menggunakan *Mupid Mini Cell* selama 50 menit pada 50 Volt. Kemudian direndam dalam larutan ethidium bromida dengan konsentrasi akhir 1µl/100 ml selama 10 menit. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi menggunakan UV transluminator, kemudian difoto menggunakan kamera. Standar ukuran 100 bp plus DNA ladder (Fermentas) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA.

Analisis Data

RAPD adalah marka dominan, sehingga dianggap sebagai satu lokus putatif bialel (*single bial-*

lelic locus) (Williams *et al.*, 1990). Hanya lokus yang menunjukkan pita yang jelas yang digunakan untuk skoring: ada (1) dan kosong (0). Matriks binari fenotip RAPD ini kemudian disusun untuk digunakan pada analisis kluster dengan menggunakan UPGMA program NTSYS-pc versi 2.02i (Rohlf, 1998). Nilai kesamaan genetika diambil dari *Simple Matching Coefficient* (Dunn dan Everitt, 1982; Rohlf, 1993).

HASIL

Profil RAPD *Musa balbisiana* Colla

Hasil amplifikasi total genom DNA 25 sampel *M. balbisiana* dengan menggunakan sembilan marka RAPD (OPA-02, OPA-07, OPA-13, OPA-18, OPB-07, OPB-17, OPB-18, OPU-06, dan OPU-12) (table 2). Profil pita DNA hasil elektroforesis menunjukkan

Tabel 2. Ukuran dan jumlah pita DNA *M. balbisiana* dengan sembilan primer RAPD

No	Kode Primer	Urutan Basa (5' - 3')	Pita DNA	Pita DNA polimorfik	Persentase po- limorfisme	Ukuran (pb)
1	OPA-02	TGCCGAGCTG	9	2	22.22	150 – 1600
2	OPA-07	GAAACGGGTG	14	2	14.29	250 – 2200
3	OPA-13	CAGCACCCAC	10	3	30.00	250 – 1300
4	OPA-18	AGGTGACCGT	4	0	0.00	350 – 500
5	OPB-07	GGTGACGCAG	5	1	20.00	300 – 1800
6	OPB-17	AGGGAACGAG	11	4	36.36	350 – 2300
7	OPB-18	CCACAGCAGT	13	1	7.69	250 – 2100
8	OPU-06	ACCTTTGCGG	11	3	27.27	150 – 2000
9	OPU-12	TCACCAGCCA	7	2	28.57	400 – 1600
Jumlah			84	18	186.4	
Rata-rata			10.5	2.25	21.43	

bahwa setiap jenis primer menghasilkan profil pita DNA berbeda (Foto 1). Sembilan marka RAPD menghasilkan 84 pita DNA berukuran dari 150 bp hingga 2200 bp, dengan 21,45% (18) pita DNA polimorfik, dengan rata-rata 10,5 pita per primer. Jumlah pita terbesar diperoleh pada primer OPA-07, dan paling rendah pada OPA-18 (Tabel 2). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah pita, jumlah pita polimorfik, serta tingkat polimorfisme pada 25 sampel *M. balbisiana* lebih rendah bila dibandingkan penelitian keragaman genetik *M. balbisiana* di India (Uma *et al.*, 2006). Uma *et al.* (2006) yang mempelajari keragaman genetik 16 sampel *M. balbisiana* koleksi dari berbagai daerah di India dengan empat primer RAPD menghasilkan jumlah pita polimorfik yang lebih tinggi yaitu 31 pita (74.6 %).

Hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan primer OPA-02 menghasilkan sembilan pita DNA, dua diantaranya pita polimorfik, dengan ukuran pita DNA pada 150-1600 pb. Pita DNA spesifik terdapat pada ukuran 150 bp yang hanya terdapat pada *M. balbisiana* Colla var. *liukiuensis* (Matsum.) Hakkinen (Foto 1). Primer OPA-07 menghasilkan 14 pita DNA yang berukuran dari 250 pb hingga 2200 pb. Primer OPA-13 menghasilkan 10 pita DNA yang berukuran dari 250 pb hingga 1300 pb. Semua varietas *M. balbisiana* memiliki pita DNA berukuran 650 pb, pita DNA ini merupakan spesifik pada

M. balbisiana dan tidak terdapat pada *M. acuminata* var *malaccensis* (Foto 1). Primer OPA-18 menghasilkan empat pita DNA monomorfik yang berukuran dari 350 pb hingga 500 pb pada semua sampel *M. balbisiana*. Sedangkan pada *M. acuminata* var *malaccensis*, primer OPA-18 menghasilkan tujuh pita DNA yang berukuran dari 450 pb hingga 1100 pb (Foto 1). Keempat pita tersebut merupakan pita spesifik yang dapat digunakan sebagai marka DNA untuk identifikasi genom B (Pillay *et al.*, 2000).

Primer OPB-07 menghasilkan empat pita DNA yang berukuran dari 300 pb hingga 1800 pb (Tabel 2). Pita DNA 400 pb hanya terdapat pada *M. balbisiana* var. *liukiuensis* (Tabel 3). Primer OPB-17 menghasilkan 11 pita DNA yang berukuran dari 350 pb hingga 2300 pb (Tabel 2). Beberapa pita DNA spesifik hanya terdapat pada *M. balbisiana* yaitu pita DNA dengan ukuran 1100 pb, 1600 pb dan 2300 pb (Foto 1). Primer OPB-18 menghasilkan 13 pita DNA yang berukuran dari 250 pb hingga 2000 pb (Tabel 2). Primer OPU-06 menghasilkan 11 pita DNA yang berukuran dari 150 pb hingga 2000 pb (Tabel 2). Pita DNA ukuran 900 pb dan 1300 pb merupakan pita spesifik pada *M. balbisiana* dan tidak terdapat pada *M. acuminata* var *malaccensis* (Foto 1). Pita-pita DNA tersebut dapat dijadikan penciri untuk *M. balbisiana*. Primer OPU-12 menghasilkan tujuh pita DNA yang berukuran 400 pb hingga 1600 pb. Pita

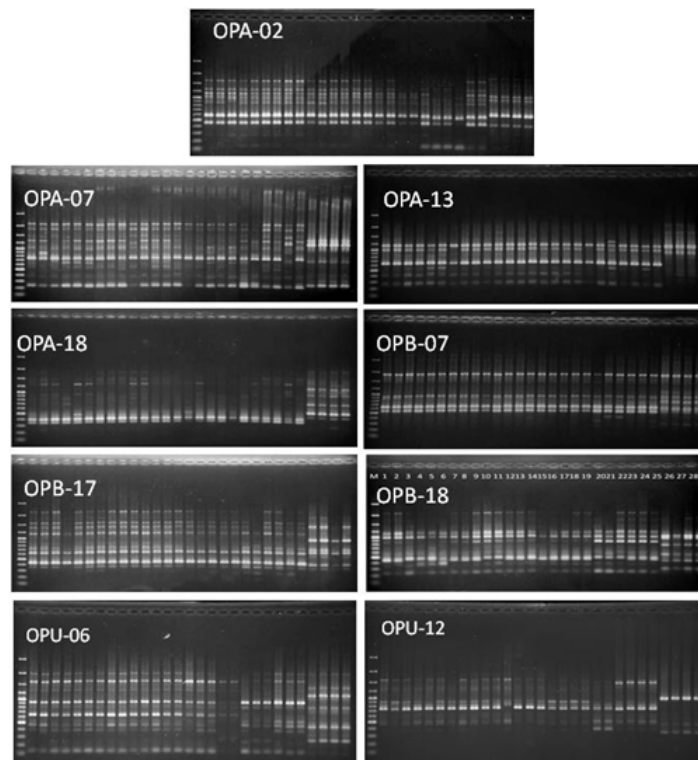


Foto 1. Profil pita DNA *M. balbisiana* hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan sembilan primer RAPD. Keterangan: M= 100 pb plus DNA ladder (Fermentas). Urutan sampel sesuai dengan Tabel1.

DNA 400 pb ini hanya terdapat pada *M. balbisiana* var *liukiensis* (Foto 1).

PEMBAHASAN

Jumlah dan intensitas pita DNA yang dihasilkan setelah amplifikasi DNA dengan PCR sangat tergantung cara primer mengenal urutan DNA komplementernya pada cetakan DNA (*DNA template*) yang digunakan (Tingey *et al.*, 1994). Hasil amplifikasi DNA pada 25 sampel *M. balbisiana* ini dengan menggunakan sembilan primer RAPD dan lima primer ISSR di atas tidak selalu memperoleh pita dengan intensitas yang sama. Intensitas pita DNA hasil amplifikasi pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi DNA cetakan. DNA cetakan yang mengandung senyawa seperti polisakarida dan senyawa fenolik, serta konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau

tidak jelas (Weeden *et al.*, 1992). Selain itu, sebaran situs penempelan primer pada DNA cetakan dan adanya kompetisi tempat penempelan primer pada DNA cetakan yang menyebabkan satu pita DNA diamplifikasi dalam jumlah banyak dan pita DNA lainnya sedikit. Proses amplifikasi mungkin diinisiasi pada beberapa tempat, tetapi hanya beberapa set yang dapat dideteksi sebagai pita sesudah diamplifikasi (Weeden *et al.*, 1992). Pemilihan primer pada analisis keragaman genetik berpengaruh terhadap polimorfisme pita yang dihasilkan, karena setiap primer memiliki situs penempelan tersendiri. Akibatnya pita DNA polimorfik yang dihasilkan setiap primer menjadi berbeda, baik dalam ukuran banyaknya pasang basa maupun jumlah pita DNA.

Profil ISSR *M. balbisiana*

Hasil amplifikasi total genom DNA 25 sampel *M. balbisiana* dengan menggunakan enam marka

ISSR (UBC-811, UBC-814, UBC-815, UBC-826, UBC-834 dan UBC-840) tertera pada Tabel 4. Enam primer ISSR menghasilkan 61 pita DNA yang berukuran dari 250 pb hingga 2200 pb, 29,51 % (18) diantaranya merupakan pita DNA polimorfik. Setiap primer menghasilkan rata-rata 10,17 pita, dengan

jumlah pita DNA terbesar diperoleh pada primer UBC-811 (13) dan paling rendah pada primer UBC-815 (8). Primer UBC-814 menghasilkan 11 pita DNA yng berukuran 400 - 2000 pb, pita DNA 1400 bp tidak terdapat pada varietas Klutuk Sukun dan varietas *liukiunensis*, dan pita DNA 2000 pb tidak

Tabel 3. Ukuran dan jumlah pita DNA *M. balbisiana* dengan lima primer ISSR

No	Kode Primer	Urutan Basa (5' - 3')	Pita DNA	Pita DNA polimorfik	Persentase polimorfisme	Ukuran (pb)
1	UBC-811	(GA)8-C	13	4	30.77	400 - 1800
2	UBC-814	(CT)8-A	11	4	36.36	400 - 2000
3	UBC-815	(CT)8-G	8	3	37.50	250 - 1450
4	UBC-826	(AC)8-C	10	3	30.00	350 - 2200
5	UBC-834	(AG)8-YT	9	3	33.33	250 - 1600
6	UBC-840	(GA)8YT	10	1	10.00	250 - 1400
	Jumlah		61	18	177.96	
	Rata-rata		10.17	3	29.50	

Tabel 3. Beberapa pita DNA spesifik pada sampel *M. balbisiana* yang diamati dengan menggunakan sembilan marka RAPD dan enam marka ISSR

No	Kode Primer	Ukuran pita DNA spesifik (pb)	Sampel
1	OPA-02	150	<i>M. balbisiana</i> var <i>liukiunensis</i>
2	OPU-12	400	<i>M. balbisiana</i> var <i>liukiunensis</i>
3	UBC-826	350	<i>M. balbisiana</i> var <i>liukiunensis</i>

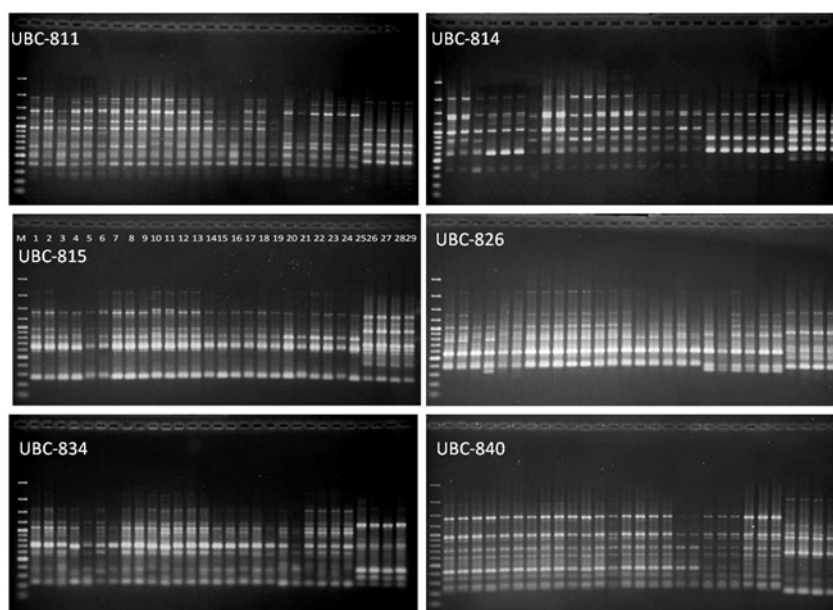
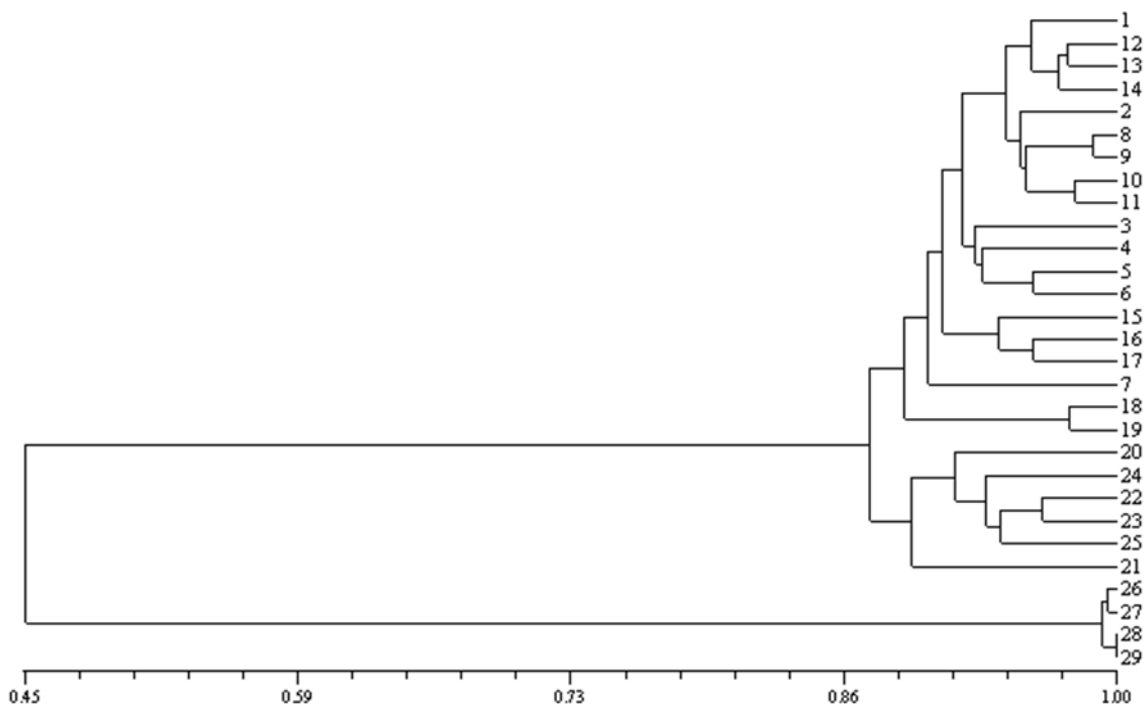


Foto 2. Profil pita DNA *M. balbisiana* hasil amplifikasi dengan menggunakan primer enam primer ISSR. Keterangan: M= 100 pb plus DNA ladder (Fermentas). Urutan sampel sesuai dengan Tabel 1.



Gambar 1. Dendrogram 25 sampel *M. balbisiana* dan empat sampel *M. acuminata* var *malaccensis* berdasarkan sembilan primer RAPD dan enam primer ISSR Keterangan: Urutan sampel yang dianalisis sama dengan urutan pada Tabel 1.

terdapat pada varietas *liukiunensis*. Primer UBC-826 menghasilkan pita DNA spesifik (350 pb) pada varietas *liukiunensis* (Foto 2).

Analisis gabungan RAPD dan ISSR

Analisis kluster yang dilakukan terhadap data gabungan marka RAPD dan marka ISSR menghasilkan dendrogram yang memisahkan *M. balbisiana* (1-25) dengan *M. acuminata* var *malaccensis* (26-29) pada koefisien 0,44. Duapuluhlima sampel *M. balbisiana* terbagi ke dalam dua kluster yang berbeda (terpisah pada koefisien 0,81). Kluster pertama (A) terdiri atas enam sampel *M. balbisiana* var *liukiunensis* (20-25). Kluster kedua (B) terdiri atas 20 sampel *M. balbisiana* (Gambar 1).

Nilai duga kesamaan genetik 25 sampel *M. balbisiana* berkisar antara 0,81 hingga 0,99. Nilai ini berbeda dengan hasil penelitian Uma *et al.* (2006) dimana nilai duga kesamaan genetik berkisar antara 0.68 hingga 1.0. Hal ini menunjukkan lebih seragamnya atau lebih sempitnya keragaman genetik 25 sampel *M. balbisiana* dalam

penelitian ini. Namun demikian, analisis lebih lanjut perlu dilakukan lagi dengan menggunakan primer yang polimorfik dan marka molekular yang berbeda untuk mendapatkan pemahaman keragaman genetik yang lebih baik.

KESIMPULAN

Sembilan marka RAPD menghasilkan 84 pita DNA yang teramplifikasi, 18 diantaranya merupakan pita DNA polimorfik (21,45%), dengan rata-rata 10.5 pita DNA dihasilkan pada setiap primer. Sedangkan enam primer ISSR menghasilkan 61 pita DNA, 18 diantaranya merupakan pita DNA polimorfik (29,50%), dengan rata-rata 10,17 pita DNA dihasilkan pada setiap primer. Analisis gabungan data marka RAPD dan ISSR pada 25 sampel *M. balbisiana* Colla dan empat sampel *M. acuminata* var *malaccensis* menghasilkan dendrogram yang memisahkan 25 sampel *M. balbisiana* dengan empat sampel *M. acuminata* var *malaccensis* menjadi dua kluster. Kluster pertama terdiri atas enam sampel

M. balbisiana var *liukiunensis*, dan kluster kedua terdiri atas 20 sampel *M. balbisiana* lainnya. Nilai duga kesamaan genetik 25 sampel *M. balbisiana* berkisar antara 0,81 hingga 0,99. Rendahnya polimorfisme pada 25 sampel *M. balbisiana* ini perlu diteliti lebih lanjut dengan menggunakan primer yang polimorfik dan marka molekular yang berbeda untuk mendapatkan pemahaman keragaman genetik yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas bantuan dana Program Kompetitif Sub Program Eksplorasi dan Pemanfaatan terukur Sumber Daya Hayati (Darat dan Laut) Indonesia Tahun 2010-2012. Penulis mengucapkan terimakasih kepada Herlina, Agus Yudhanto, Yuni dan Dian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoreyo BO, KD Golden and SE Brown. 2008. Analysis of genetic variability among plantain cultivars (*Musa paradisiaca* L.) using arbitrarily primed PCR technique. *African Journal of Biotechnology* 7, 1041-1045.
- Arjcharoen A, B Silayoi, K Wanichkul and S Apisitwanich. 2010. Variation of B Genome in *Musa* Accessions and Their New Identifications. *Kasetsart Journal of Natural Science* 44, 392 – 400.
- Bhat KV and RL Jarret. 1995. Random amplified polymorphic DNA and genetic diversity in Indian *Musa* germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution* 42, 107 -118.
- Brown N, Venkatasamy S, Khittoo G, Bahorun T and Jawaheer S. 2009. Evaluation of genetic diversity between 27 banana cultivars (*Musa* spp.) in Mauritius using RAPD markers. *African Journal of Biotechnology* 8, 1834-1840.
- Chiu HL, SL Lee, CL Yeh, CT Shii and CR Yeh. 2007. *Musa balbisiana* LA Colla, a newly naturalized wild banana in Taiwan. *Journal of Taiwan Agricultural Research* 56, 215-223 (Abstract)
- Crouch JH, HK Crouch, H Constandt, A Van Gysel, P Bretne, M Van Montagu, RI Jarret and R Ortiz. 1999. Comparison of PCT-based molecular marker analyses of *Musa* breeding populations. *Molecular Breeding* 5, 233-244.
- De Langhe ED, Wattanachai Yingcharoen, H Volkaert and S Piyapitchard. 2000. Biodiversity of wild Musaceae in northern Thailand. *Proceedings of the 9th INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee Meeting*, South China Agricultural University, Guangzhou, China, 2-5 November 1999. AB Molina and VN Roa (Editors), 71-82. INIBAP-ASPNET.
- De Langhe ED, EL Vrydaghs, P de Maret, X Perrier and T Denham. 2009. Why bananas matter: An introduction to the history of banana domestication. *Ethnobotany Research and Applications* 7, 165-177.
- Delaporta SL, J Wood J and JB Hicks. 1983. A plant DNA miniprep. Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 4, 19-21.
- Dunn G and BS Everitt. 1982. *An Introduction to Mathematical Taxonomy*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ge XJ, MH Liu, WK Wang, BA Schaal and TY Chiang. 2005. Population structure of wild bananas, *Musa balbisiana*, in China determined by SSR fingerprinting and cpDNA PCR-RFLP. *Molecular Ecology* 14: 933-944.
- Godwin ID, EAB Aitken and LW Smith. 1997. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis* 18, 1524-1528
- Häkkinen M and H Väre. 2008. Typification and check-list of *Musa* L. names (Musaceae) with nomenclatural notes. *Adansonia* 3, 30: 63-112.
- Howell EC, HJ Newbury, RL Swennen, LA Withers and BV Ford – Lloyd. 1994. The use of RAPD for identifying and classifying *Musa* germplasm. *Genome* 37, 328-332.
- Jain PK, ML Saini, H Pathak and PK Gupta. 2007. Analysis of genetic variation in different banana (*Musa* species) variety using random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *African Journal of Biotechnology* 6, 1987-1989.
- Lakshmanan V, Venkataramareddy SR, and Neelwarne B. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. *Electronic Journal of Biotechnology* 10 (1) <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol10/issue1/full/12>. Diakses tanggal 2 Januari 2013.
- Pillay M, DC Nwakanma and A Tenkouano. 2000. Identification of RAPD markers linked to A and B genome sequences in *Musa*. *Genome* 43, 763-767.
- Poerba YS and Ahmad F. 2010. Genetic variability among 18 cultivars of cooking bananas and plantain by RAPD and ISSR markers. *Biodiversitas* 11, 118-123.
- Racharak P and W Eiadthong. 2007. Genetic relationship among subspecies of *Musa acuminata* Colla and A-genome consisting edible cultivated bananas assayed with ISSR markers. *Songklanakarin J Sci Technol* 29, 1479-1489.
- Ray T, I Indrajit, P Saha, DAS Sampa and SC Roy. 2006. Genetic stability of three economically important micropropagated banana (*Musa* spp.) cultivars of lower Indo-Gangetic plains, as assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant cell, tissue and organ culture* 85, 11-21.
- Reddy MP, N Sarla N and EASiddiq. 2002. Inter simple sequence repeats (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128, 9-17.
- Rohlf FJ. 1993. NTSYS-PC. *Numerical taxonomy and multivariate analysis*. Version 2.0. Exeter Software. New York
- Sarma R, S Prasad and NK Mohan. 1995. Bhimkal, description and uses of a seeded edible banana of North Eastern India. *InfoMusa* 4, 8.
- Simmonds NW and K Shepherd. 1955. The taxonomy and origins of the cultivated bananas. *Linnean Society. Botanical J* 55, 302-312.
- Sotto, R.C., and RC Rabara. 2000. Morphological diversity of *Musa balbisiana* Colla in the Philippines. *InfoMusa* 9, 28-30.
- Tingey SV, JA Rafalski and MK Hanafey. 1994. Genetic analysis with RAPD markers. In: Belin, C Coruzzi and P Puidormenech P (Eds.). *Plant Molecular Biology*. Springer-Verlag.

- The Plant List. 2010.** A Working list of all plant species. Version 1, released in December 2010. Collaborative project by the Royal Botanic Gardens, Kew and Missouri Botanical Garden. < <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Musa> >.
- Ude G, M Pillay, D Nwakanma and A Tenkouano. 2002.** Genetic diversity in *Musa acuminata* Colla and *Musa balbisiana* Colla and some of their natural hybrids using AFLP markers. *Theoretical And Applied Genetics* **104**, 1246-1252
- Uma S, A Siva, MS Saraswathi, M Manickavasagam, P Durai, R Selvarajan and S Sathiamoorthy. 2006.** Variation and Intraspecific Relationships in Indian Wild *Musa balbisiana* (BB) Population as Evidenced by Random Amplified Polymorphic DNA. *Genetic Resources and Crop Evolution* **53**, 349-355.
- Venkatachalam L, V Sreedhar and Bhagyalakshmi. 2007.** Genetic analyses of micropropagated and regenerated of banana as assessed by RAPD and ISSR markers. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* **43**, 267
- Wang X-L, T-Y Chiang, N. Roux, G. Hao and X-J Ge. 2007.** Genetic diversity of wild banana (*Musabalbisiana* Colla) in China as revealed by AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* **54**, 1125-1132.
- Wang J-Y, B-Z Huang, Y-Y Chen, S-P Feng and Y-T Wu. 2011.** Identification and characterization of microsatellite markers from *Musa balbisiana*. *Plant Breeding* **130**, 584-590. doi: 10.1111/j.1439-0523.2011.01861.x
- Weeden NF, GM Timmerman, M Hemmat, BE Kneen dan MA Lodhi. 1992.** Inheritance and Reliability of RAPD Markers. *Proceeding of Joint Plant Breeding Symposium Series. Applications of RAPD Technology to Plant Breeding*. pp. 12-17. Crop Science Society of America, American Society for Horticultural Science and American Genetic Association.
- Welsh J and McClelland M. 1990.** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl Acids Res* **18**, 7213-7218.
- Williams JG, AR Kubelik, KJ Livak, JA Rafalsky and SV Tingev. 1990.** DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* **18**: 6531-6535.